

**Aktivitätsmuster und Histotopie von Enzymen des
energieliefernden Stoffwechsels
nach örtlicher n-Hexadecan-Applikation**

Jens Kirstein

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr.O.Braun-Falco

Aktivitätsmuster und Histotopie von Enzymen des

energieliefernden Stoffwechsels

nach örtlicher n-Hexadecan-Applikation

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Jens Kirstein

aus

Goldap

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. O. Braun - Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.8.1975



INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung.....	1
Enzymhistochemische Untersuchungen.....	10
Material und Methoden.....	11
Untersuchungsergebnisse.....	15
1.) Morphologische Befunde.....	15
2.) Histochemische Befunde.....	17
I.) Enzyme der Glykolyse und ihrer Seitenwege.....	17
II.) Enzyme des Citronensäurecyclus und seiner Seitenwege.....	22
III.) Enzyme der Atmungskette und Ubichinon.....	27
Besprechung der Untersuchungsergebnisse.....	31
Zusammenfassung.....	36
Tabellen.....	38
Literaturverzeichnis.....	49

Die Hornschicht ist der oberflächliche, dem äußeren Keimblatt entstammende Teil des Hautorgans, welches dem Organismus als äußerlichste Schutzhülle dient. Mit der Hornschicht schließt die Epidermis den Körper gegen die Umwelt ab und übt wichtige Schutzfunktionen aus. Entwicklungsgeschichtlich hat erst die Ausbildung einer funktionstüchtigen Hornschicht, d.h. die Fähigkeit zur Keratinsynthese, den Übergang aus flüssigem (Meer) in gashaltiges (Luft) Medium möglich gemacht (BRAUN-FALCO, RASSNER). Für einen im gashaltigen Medium lebenden Organismus ist die Hornschicht nicht nur eine Barriere gegen exogene Noxen, sondern sie schützt vor allen Dingen auch vor Wärme-, Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Eiweißverlusten von innen her. Störungen dieses Mechanismus im Bereich größerer Körperflächen haben Rückwirkungen auf den gesamten Energiehaushalt des Körpers und können sich lebensbedrohlich auswirken (STÜTTGEN).

Der Übergang der kernhaltigen Epidermiszellen des Stratum granulosum in die hochanisotrope Schicht des zellfreien Stratum corneum ist nur scheinbar ganz plötzlich. Ursache dieser Umwandlung sind komplexe biochemische Vorgänge (BRAUN-FALCO, FLESCHE). Der Beginn dieser im Normalfall immer gleich ablaufenden Vorgänge ist im Stratum basale lokalisiert. Sie führen in der sogenannten Intermediärzone zum völligen Zellabbau und haben damit die Bildung der definitiven Hornschicht zur Folge. Diese setzt sich aus Struktureiweißen, den Skleroproteinen (50%), wasserlöslichen Inhaltsstoffen (23%), Lipiden (20%) und Wasser (7%) zusammen (STÜTTGEN). Zur Erhaltung einer funktions-

tüchtigen Hornschicht muß die mehrschichtige Epidermis laufend neue Hornschicht bilden und alte nach außen hin unmerklich abstoßen (Desquamatio insensibilis). Da sich bei diesem Vorgang "lebende" Epidermiszellen schließlich in "tote" Hornzellen umwandeln, hat man mit Recht die Hornschichtbildung als Ganzes auch als holokrine Drüsensekretion aufgefaßt (BRAUN-FALCO, MONTAGNA). Man kann das Stratum corneum auch als Umwandlungsmaterial der darunterliegenden Zellen betrachten (STÜTTGEN).

Bei der Bildung der definitiven Hornschicht greifen zwei Hauptvorgänge ineinander:

1. Die Zellproliferation.

Im Stratum basale stehen die einzelnen Zellen in engem Kontakt mit dem gefäßführenden Bindegewebe, wodurch die Sauerstoff- und Metabolitenversorgung gewährleistet ist. Basalzellen sind hoch zylindrisch und haben einen großen Zellkern mit relativ großem Nukleolus (BRAUN-FALCO, CHARLES, ZELICKSON, HARTMANN). Der hohe Gehalt an freien Ribosomen und zahlreiche Mitochondrien weisen auf die hohe Syntheserate zelleigener Proteine und eine gesteigerte Enzym-, Membran- und Strukturprotein-Synthese hin. Der Vorgang der Verhornung wird also schon in der tiefsten Epidermis eingeleitet. Von dieser Schicht erfolgt der Nachschub der Zellen in Richtung Stratum corneum. Als Zeichen der beginnenden Ausdifferenzierung enthält die Basalschicht bereits Tonofilamente und kleinere Tonofilamentbündel, (BRAUN-FALCO und RASSNER, STÜTTGEN).

2. Die Ausdifferenzierung der Epidermiszellen

Auf dem Weg zur Hornschicht läuft die Ausdifferenzierung intrazellulär ab. Die wichtigsten Strukturveränderungen

sind:

1. die Bildung von Keratin,
2. der mit der Totalverhornung verbundene Abbau des Zellinhaltes und
3. die Veränderungen im energieliefernden Stoffwechsel.

In normaler Haut laufen die wichtigsten Differenzierungsvorgänge in der Übergangs- oder Intermediärzone ab. Diese schmale Zone zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum ist bei Mensch und Tier vorhanden. Sie besteht aus teilweise verhornten Zellen mit noch sichtbaren Kernen (BRAUN-FALCO, BRODY). Auf einem Schnitt von normaler Haut sieht man in der Intermediärzone die Differenzierung von Zellen mit noch sichtbaren Kernen in solche Strukturen, die zum größten Teil totale Verhornung aufweisen (BRAUN-FALCO, BRODY).

Die Hornschicht kann nach FLESCH als das Endresultat zweier Vorgänge aufgefaßt werden:

1. der Keratinisierung, d.h. der Konsolidation der fibrösen Keratin-Vorstufen unter Mitbeteiligung der Keratohyalinkörnchen (und von Lipoiden) zu wasserunlöslichem Keratin;

2. der Zelldekomposition, d.h. dem Abbauzellulärer Bestandteile unter Bildung des Nichtkeratin-Anteils der Hornschicht, der zum größten Teil mit den "lockeren wasserlöslichen Inhaltsstoffen" der Hornschicht identisch ist (SZAKALL).

Versuche an normaler Haut haben gezeigt, daß die histochemischen Reaktionen auf Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in der Übergangs- oder Intermediärzone schon weitgehend negativ sind (BRAUN-FALCO). Alle oxydativen Zellleistungen sistieren hier. Jedoch weist eine erhöhte Aktivität

von unspezifischen Esterasen, sauren Phosphatasen und anderer Hydrolasen auf eine verstärkte Tätigkeit depolymerisierender und hydrolysierender Enzymsysteme hin (STEIGLEDER).

So fallen die histochemischen Nachweise für Lipasen, beta-Glucoronidase, Ribonuklease und Desoxyribonuklease in dieser Schicht stark positiv aus. Daraus erklärt sich auch die Tatsache, daß sich zahlreiche Spaltprodukte aus diesen komplexen Reaktionsabläufen in der Intermediärzone nachweisen lassen (BRAUN-FALCO). Man darf also annehmen, daß in der Intermediärzone unter der Hornschicht unter Auflösung aller zytoplasmatischer Strukturen und nukleärer Zellbestandteile die definitive Keratinsynthese stattfindet. Die Zellen sind hier in einen transitorischen Zustand der Keratinisation (STÜTTGEN). Dieser ist begleitet von zahlreichen katabolen Stoffwechselprozessen. Unter normalen Bedingungen entsteht aus dem Ablauf der obengenannten Vorgänge ein in qualitativer und in quantitativer Natur gleichbleibendes Stratum corneum.

Unter pathologischen Bedingungen kann nun der Ablauf gestört sein und es kann zur Hyperkeratose, einer mehr oder minder starken Verbreiterung der Hornschicht kommen. Die Ursache dieses Zustandes ist entweder eine erhöhte Epidermopoese mit verstärkter DNS-Synthese, die zu einer vermehrten Hornbildung führt (Proliferationshyperkeratose) oder die Hornbildungsrate bleibt gleich, wobei jedoch die Desquamation oberflächlicher Hornlamellen stark verzögert ist (Retentionshyperkeratose). Letztere findet man z.B. bei Ichthyosis vulgaris, während z.B. Lichen ruber verrucosus, Callus, Verrucae, keratotische Naevi, Lichen simplex chronicus

und Neurodermitis diffusa durch Proliferationshyperkeratose verursacht sind.

Bisherige histochemische Untersuchungen über divergierende Reaktionsabläufe zwischen normaler Haut und durch Retention hervorgerufener hyperkeratotischer Haut ergaben keine sehr auffallenden Unterschiede. Die histochemischen Eigenschaften der Intermediärzone, der Schicht der definitiven Keratinsynthese, sind bei beiden etwa gleich, so daß man annehmen kann, daß der Ausdifferenzierungsprozeß bei Retentionshyperkeratose dem Verhornungsvorgang in normaler Haut sehr ähnlich ist und der krankhafte Vorgang in der verminderten Ablösung einzelner Hornzellen beruht. Dagegen findet man die Intermediärzone, die bei normaler Haut histologisch als ein scharf begrenzter, schmaler Streifen erscheint, in der proliferativ-hyperkeratotischen Haut häufig ohne definitive Abgrenzung. Bei dieser Verhornungsstörung ist die Intermediärzone mehr oder minder stark verbreitert und schließt Lagen des Stratum granulosum und des Stratum corneum mit ein (BRAUN-FALCO, STEIGLEDER).

Während bei der Proliferationshyperkeratose ein funktionell intaktes Stratum granulosum erhalten bleibt, kann es unter besonderen Bedingungen auch zur sogenannten Parakeratose kommen, bei der gewöhnlich das Stratum granulosum fehlt und in der Hornschicht die Zellkerne erhalten bleiben (STEIGLEDER, BRAUN-FALCO). Vielleicht ist hier die Hornbildungsrate erhöht und der physiologische Zell- und Kernabbau bleibt gleich, so daß es zur Persistenz der Zellkerne in der Hornschicht kommt (SPIER). Bei normaler Haut enthalten die Zellen des Stratum granulosum ein histidinreiches Protein (HRP), das dort mit hoher Syntheserate gebildet wird.

Das Histidin ist in relativ hoher Konzentration in den Keratohyalingranula zu finden. Histidinreiches Protein und Histidin werden jedoch nicht aufgefunden, wenn die Granula fehlen und die Keratinisierung unvollständig abläuft (STÜTTGEN). Zu Körperchen, die elektronenmikroskopisch bei der Transformation von Keratinocyten zur Hornzelle zu beobachten sind, gehören Keratinosomen (Odland-bodies). Diese Körperchen scheinen ebenfalls mit der Keratinisation der Epidermis in Zusammenhang zu stehen (STÜTTGEN). Bei Parakeratose fehlen histidinreiches Protein und Keratinosomen. Somit fehlt die Voraussetzung für eine normale Keratinsynthese (FUKUYAMA und BERNSTEIN).

Parakeratotische Hornschichtareale in der Zone gesteigerter Epidermopoese und des Psoriasisherdes zeigen deutliche histochemische Aktivitäten von verschiedenen, vor allem glykolytischen, nicht strukturgebundenen Enzymen. Dieser Befund steht in guter Übereinstimmung zu biochemischen Untersuchungsergebnissen an Psoriasissschuppen. (WEBER). Dies läßt erkennen, daß bei übersteigerter und qualitativ abnormer oder unvollkommener Verhornung offenbar auch Enzymproteine nicht regelrecht abgebaut werden (BRAUN-FALCO, PETZOLDT). Verursacht durch das Fehlen von keratohyalinhaltiger Zellschicht laufen die Ausdifferenzierungs- und Verhornungsvorgänge pathologisch ab und haben verbreiterte Hornschicht der Parakeratose zur Folge.

BRAUN-FALCO, STEIGLEDER und STEINER haben gezeigt, daß in der gesamten parakeratotischen Hornschicht Verhältnisse anzutreffen sind, wie sie sonst nur auf die Intermediärzone beschränkt sind.

Man kann aus funktioneller Sicht cum grano salis die parakeratotische Hornschicht als eine verbreiterte Intermediärzone auffassen, während andererseits eine eigentliche Intermediärzone nicht existiert (BRAUN-FALCO).

Pathologische Stoffwechselbedingungen in der Haut hervorgerufen durch Umwelteinflüsse, wie starke Lichteinwirkung sowie chemische, mechanische oder thermische Reize können durch abnorme Steigerung der Epidermopoese sowohl zur Hyperkeratose als auch zur Parakeratose führen (CHRISTOPHERS).

Veränderungen der Epidermis können auch auf experimentellen Wege erreicht werden. Durch lokale Applikation der unterschiedlichsten chemischen Substrate auf die Haut läßt sich in verschiedener Intensität eine umschriebene Hyperkeratose der Haut hervorrufen.

KIRK und HOEKSTRA berichteten über eine Hyperkeratose der Meerschweinchenhaut, die durch ötliche Anwendung von n-Hexadecan ausgelöst war. Sie gingen von früheren Untersuchungen aus, die ergeben hatten, daß die langdauernde Behandlung der Haut mit verschiedenen, nicht karzinogenen Kohlenwasserstoffen und Mineralölen zu Epidermishyperplasie und Hyperkeratose führt (HOEKSTRA, DICKE, PHILLIPS, BROOKS, BAUMANN, BUJARD, JADASSOHN). Von allen untersuchten Kohlenwasserstoffen führte n-Hexadecan zu den deutlichsten hyperkeratotischen Veränderungen an der Meerschweinchenhaut.

KIRK und HOEKSTRA beobachteten nach der ersten n-Hexadecan-Anwendung zunächst eine umschriebene Rötung der behandelten Fläche. Im Laufe der weiteren Behandlung fanden sie zunehmende zelluläre Hypertrophie infolge einer deutlich erhöhten mitotischen Aktivität der "vitalen" Schichten. Nach Ausbildung einer Hyperkeratose der epidermalen Oberfläche und der Haarfollikel stieß sich die Hornschicht später in großen Platten wieder ab. Nachdem die hyperkeratotische Hornschicht abgestoßen war, fand sich darunter eine fast normale Haut, die insgesamt allerdings etwas dünner war als bei Versuchsbeginn. Die durch n-Hexadecan-Applikation bewirkte Hyperkeratose erwies sich somit zur Beobachtung der Epidermisveränderungen während des Verhornungsvorgangs sehr gut geeignet.

Im Laufe der Behandlung konnte durch Beobachtung der Veränderung der Verhornung und Änderung der Eigenschaften und Zusammensetzung der Meerschweinchenhaut als Reaktion auf die n-Hexadecan-Applikation gewisse Rückschlüsse auf den Mechanismus der Keratinisierung gezogen werden. Unter der Behandlung stieg das Trockengewicht der Epidermis bis zu 800 % an, wobei die Reaktion streng auf die behandelte Fläche begrenzt war (KIRK und HOEKSTRA). Auffallend war, daß die Stärke der Reaktion bei Einzelapplikation stark dosisabhängig war, während bei wiederholter Behandlung die Wahl der Intervalle das Ausmaß der erzielten Hyperkeratose bestimmten. Die Gesamtdosis spielte in diesem Falle eine sekundäre Rolle.

Mit der Zunahme des Gewichtes der Epidermis sank der relative Wassergehalt der behandelten Fläche. Bedingt durch eine Abnahme des Gehaltes an wasserlöslichen Substanzen in der hyperkeratotischen Hornschicht war die Wasserbindungskapazität wesentlich geringer als die normaler Haut (ROSSMILLER und HOEKSTRA).

In einer weiteren Untersuchung (ROSSMILLER und HOEKSTRA) wurde festgestellt, daß die Entwicklung der Hyperkeratose sowohl die Gesamtmenge als auch die Zusammensetzung der einzelnen Aminosäuren in der Epidermis beeinflußt. Da die freien Aminosäuren den größten Teil der wasserlöslichen Verbindungen in der Epidermis stellen, wurde daraus gefolgert, daß sie bei der durch n-Hexadecan hervorgerufenen Hyperkeratose wegen des verminderten Trockengewichtes abgenommen haben mußten. Die Konzentration an nicht-essentiellen Aminosäuren war in der behandelten Epidermis gegenüber der der nicht behandelten Kontrolltiere um ein Drittel erniedrigt (ROSSMILLER und HOEKSTRA). Ein signifikanter Unterschied in der Gewebskonzentration an essentiellen Aminosäuren konnte dagegen nicht gefunden werden. Daraus wurde gefolgert, daß für die Gewebsspiegel dieser Metaboliten verschiedene Kontrollmechanismen als Regulatoren tätig sind (ROSSMILLER und HOEKSTRA).

Schon in einer früheren Arbeit (ROSSMILLER und HOEKSTRA) war festgestellt worden, daß die Arginase-Aktivität in mit n-Hexadecan behandelte, hyperkeratotische Epidermis stark gesteigert war. So darf angenommen werden, daß in der Hyperkeratose durch Steigerung der Enzymaktivität

die Abbaurrate des Substrates gegenüber der normalen Haut gesteigert ist. Einer Untersuchung dieser Fragen dient unter anderem diese Arbeit.

Enzymhistochemische Untersuchungen

Enzymatische Untersuchungen in den letzten Jahren haben zur Begriffsbestimmung sogenannter Enzymmuster geführt. Durch enzymhistochemische Untersuchungen der Gewebe kann man wertvolle Rückschlüsse auf die Enzymhistotopie und relativ gute Vorstellungen über die Enzymaktivität gewinnen. Dabei werden die Enzyme ganz bestimmter Stoffwechselabschnitte in verschiedenen Geweben miteinander verglichen. Man kann andererseits auch gleich Gewebe und Zellabschnitte unter verschiedenen Einflüssen, so unter der fortlaufenden, lokalen Applikation einer bestimmten chemischen Substanz beobachten. Die Verschiebung eines Enzymaktivitätsmusters unter diesen Bedingungen kann dann wertvolle Rückschlüsse auf Stoffwechselveränderungen in diesem Gebiet liefern. Die Analyse von Enzymaktivitätsmustern kann so bereits auf der Stufe elementarer Stoffwechselvorgänge Rückschlüsse auf die weitere Gewebsausdifferenzierung liefern.

BRAUN-FALCO und PETZOLDT führten eine Austestung optimaler Reaktionsbedingungen bei der histochemischen Darstellung von Enzymen der Epidermis durch. Diese Enzymmuster sollen in der vorliegenden Arbeit als Vergleich dienen. Es soll dabei untersucht werden, wie sich unter der langdauernden n-Hexadecan-Applikation das Enzymmuster der Meerschweinchenepidermis verhält.

Material und Methodik

N-Hexadecan ist ein langkettiger, gesättigter Kohlenwasserstoff. Er enthält 16 C-Atome und befindet sich bei Zimmertemperatur in flüssigem Aggregatzustand.

Männliche Albinomeerschweinchen wurden täglich einmal mit 0,96 ml n-Hexadecan an einer mit Methylenblau abgegrenzten, vorher enthaarten Rückenfläche von der Größe sechs mal acht cm bis 21 Tage behandelt. Excisate wurden nach Tötung der Tiere durch Nackenschlag entnommen, kurzfristig bei -20 C aufbewahrt und im Kryostat (System Dittes-Duspiva) auf eine Dicke von 14 geschnitten. Vergleichend wurden auch Excisate aus der unbehandelten Bauchseite untersucht. Ein Teil der Excisate gelangte zur späteren Herstellung von Paraffinschnitten in neutrales Formalin.

Die Versuche mit unverdünntem n-Hexadecan, wie sie in ähnlicher Anordnung bereits von KIRK, ROSSMILLER und HOEKSTRA angegeben wurden, zeigten bald, daß der Reizeffekt der unverdünnten Substanz auf die Meerschweinchenepidermis zu stark war. Bei Verwendung von unverdünntem n-Hexadecan bildeten sich die Veränderungen im Epidermisbereich innerhalb so kurzer Zeit aus, daß man einzelne Phasen der abnormen Hornschichtbildung nicht mehr genau erfassen konnte. Bereits am zweiten Behandlungstag kam es zu einer abnormen Hornschichtbildung und am vierten und fünften Behandlungstag stießen sich große Hornlamellen ab.

Bei örtlicher Anwendung von unverdünntem n-Hexadecan

wurde der Allgemeinzustand der Versuchstiere immer schlechter. Es kam zu einer rapiden Gewichtsabnahme. Durch die zu schnelle Bildung gewaltiger Hornschichten waren die Tiere in ihrer Beweglichkeit stark eingeschränkt. Die Tiere hatten im Versuchsverlauf zunehmende Gleichgewichtsstörungen. Auch wurde die Haut der nichtbehandelten Bauchseite geringgradig hyperkeratotisch, wodurch eine genaue Beurteilung der Ergebnisse manchmal erschwert war. Die Tiere hatten durch Belecken der Behandlungsfläche das n-Hexadecan auf die übrige Körperfläche verteilt, was dann durch Beeinträchtigung der Schleimhäute im Maul zur verminderten Nahrungsaufnahme, durch Einbringung in den Gehörgang zu Gleichgewichtsstörungen und durch Applikation auf die unbehandelte Kontrollfläche zur Hyperkeratose an dieser Stelle führte.

Die Versuchsanordnung von KIRK, ROSSMILLER und HOEKSTRA wurde deshalb abgeändert. Im Hauptversuch, aus dem die später angegebenen Versuchsergebnisse stammen, wurde mit Äther im Verhältnis 1:3 verdünntes n-Hexadecan verwendet. Als Vergleichswert wurden Excisate aus der Bauchhaut von Kontrolltieren, die nur mit Äther behandelt waren, untersucht. Diese Tiere waren von den anderen absondert, um ein erneutes Verreiben auf die Kontrollflächen zu vermeiden. Dabei zeigte sich, daß Äther, in der selben Weise als Dauerbehandlung auf die Bauchhaut appliziert, keinerlei makroskopische, histologische oder histochemische Veränderungen an normaler Meerschweinchenepidermis hervorruft.

Folgende Enzyme wurden histochemisch nachgewiesen und histiographisch ausgewertet:

<u>1.Enzyme der Glykolyse und ihrer Seitenwege</u>	<u>Abk.</u>
Lactatdehydrogenase(1.1.1.27)	LDH
Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase(1.2.1.12)	GAPDH
Aldolase(4.1.2.7)	ALD
Glucose-6-phosphatdehydrogenase(1.1.1.49)	G-6-PDH
6-Phosphogluconatdehydrogenase(1.1.1.44)	6-PGDH
NADP-spezifisches Malatenzym(1.1.1.40)	ME
Hydroxybuttersäuredehydrogenase(1.1.1.30)	HBDH
Glycerin-1-phosphatdehydrogenase(1.1.1.8)	GDH
<u>2.Enzyme des Citronensäurecyclus und seiner</u>	
<u>Seitenwege</u>	<u>Abk.</u>
NAD-spezifische Isocitratdehydrogenase(1.1.1.41)	IDH-NAD
NADP-spezifische Isocitratdehydrogenase(1.1.1.42)	IDH-NADP
Succinatdehydrogenase(1.3.99.1)	SDH
Malatdehydrogenase(1.1.1.37)	MDH
NAD-spezifische Glutamatdehydrogenase(1.4.1.2)	GLuDH-NAD
NADP-spezifische Glutamatdehydrogenase(1.4.1.3)	GLuDH-NADP
<u>3.Enzyme der Atmungskette</u>	<u>Abk.</u>
Cytochromoxydase	CYase
NADH-Tetrazoliumreduktase(DPNH-Diaphorase)	NADH-TR
NADPH-Tetrazoliumreduktase(TPNH-Diaphorase)	NADPH-TR
Ubichinon	UBI

Der Durchführung der histochemischen Reaktionen wurden folgende Methoden zugrunde gelegt:

LDH, G-6-PDH, 6-PGDH, GDH, ME, IDH (NAD und NADP), MDH, GLuDH (NAD und NADP), HBDH nach HESS, SCARPELLI und PEARSE, nach NACHLAS, WALKER und SELIGMAN sowie nach PEARSE; GAPDH modifiziert nach HIMMELHOCH und KARNOWSKY; SDH nach NACHLAS, TSOU, SOUZA, CHENG und SELIGMAN; ALD nach ABÉ und SHIMIZU; NADH-TR und NADPH-TR nach BURSTONE; UBI nach TRANZER und PEARSE; CYase nach BURSTONE unter Verwendung von p-Aminodiphenylamin und 8-Amino-1,2,3,4-tetrahydrochinolin.

Bei der Auswertung der Präparate wurde bei schwacher Vergrößerung (63 fach) die Stärke der Anfärbung der Zellelemente bzw. die Intensität der Formazanniederschläge in der Epidermis beurteilt. Die in die Tabellen eingesetzten Bezeichnungen sind folgendermaßen zu interpretieren:

- Ø = negativer Ausfall der histochemischen Reaktion;
 - +
 - ++
 - +++
- = schwach positiver Ausfall der histochemischen Reaktion; Formazangranula eben wahrnehmbar;
- = stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion; Formazangranula deutlich wahrnehmbar;
- = Sehr stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion; dichte Formazanniederschläge

Ergebnisse

1. Morphologische Befunde (Hämatoxylin-Eosin-Schnitte)

Bei Betrachtung eines H.E.-Schnittes von normaler Meerschweinchenepidermis (siehe Abb.) findet man ein schmales, einschichtiges Stratum basale mit nur ganz vereinzelt in der Mitose befindlichen Zellen. Im darauf folgenden Stratum spinosum und den weiteren Lagen sieht man normalerweise große, chromatinreiche Zellkerne mit entsprechend großen Nukleolen. Darüber liegt ein ein- bis zweischichtiges Stratum granulosum, in dem sich die Zellen horizontal umgeordnet haben. Charakterisiert sind diese Zellen durch deutliche Keratohyalin-Granula. Die Übergangszone zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum ist sehr schmal und erscheint bei histologischer Betrachtung äußerst scharf begrenzt. Die abschließende Hornschicht ist anisotrop und zellkernfrei.

Im Versuchsverlauf wurde dieses Bild von normaler Meerschweinchenepidermis durch tägliche, örtliche Applikation von n-Hexadecan in charakteristischer Weise verändert.

1. Tag :

Das histologische Bild am ersten Tag nach der initialen Anwendung entsprach im wesentlichen der normalen Haut der unbehandelten Tiere.

3. Tag :

Bei der Untersuchung der H.E.-Schnitte am dritten Tag nach der initialen Applikation hatte sich das Bild in

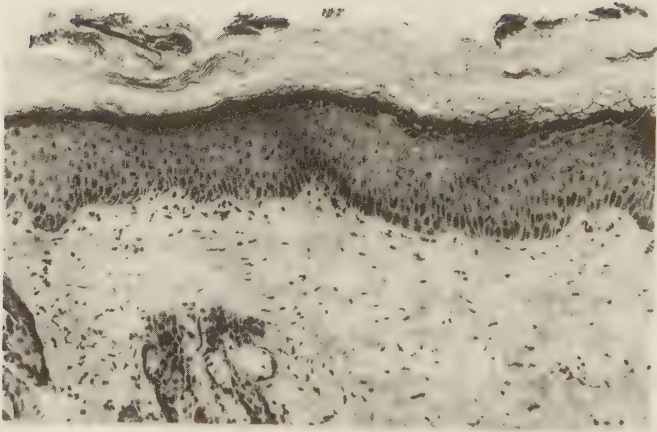


Abb.1. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.:128fach.Das histologische Bild entspricht im wesentlichen der normalen Haut.

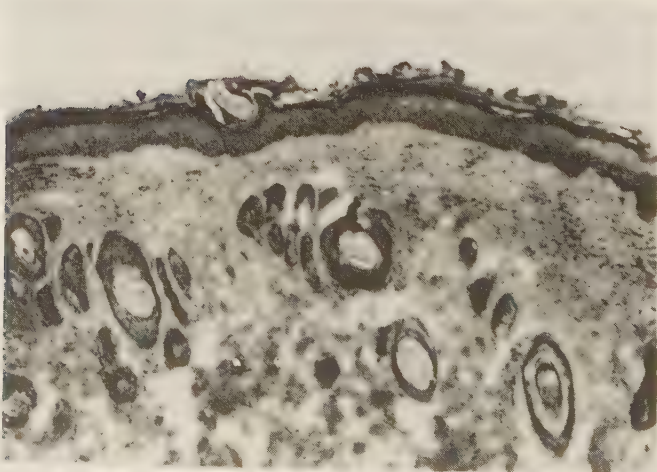


Abb.2. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.:320fach.Bandförmige Verbreiterung der Epidermis ohne Papillomatose. Durchgehende Parakeratose.

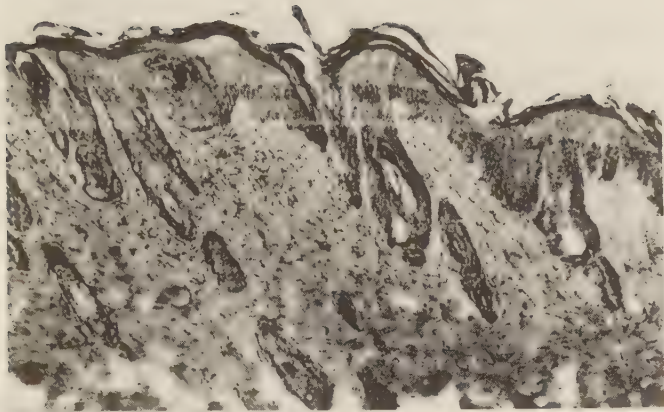


Abb.3. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Am 5.Tag der n-Hexadecan-Applikation ist die Hornschichtbildung weiter fortgeschritten.Starke Papillomatose.



Abb.4. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Am 5.Tag ist Parakeratose durch eine Hyperkeratose ersetzt.

charakteristischer Weise verändert. Es fand sich eine bandförmige Verbreiterung der Epidermis ohne wesentliche Papillomatose. Die entstandene zelluläre Hypertrophie und Hyperplasie war durch eine histologisch gut erkennbare mitotische Aktivität hervorgerufen (CHRISTOPHERS). Bereits zu diesem Zeitpunkt fand man Störungen im Verhornungsmechanismus, zunächst in Form einer durchgehenden Parakeratose. An einzelnen Stellen der Schnitte war das Stratum granulosum nicht mehr nachweisbar.

5. Tag :

Am 5. Tag der fortlaufenden lokalen n-Hexadecan-Applikation waren die histologischen Veränderungen noch stärker ausgeprägt. Es hatte sich eine starke Papillomatose entwickelt. Unter der n-Hexadecan-Einwirkung war die Hornschichtbildung weiter fortgeschritten. In dem mächtig verdicktem Stratum corneum waren nur noch vereinzelt in den unteren Schichten Zellkerne nachweisbar. Teilweise war die Hornschicht schon zellkernfrei. Die Parakeratose war durch eine Hyperkeratose ersetzt. Das Stratum granulosum war zu diesem Zeitpunkt drei- bis vierschichtig.

7. Tag :

Am 7. Versuchstag kam es durch Verstärkung der Retezapfen zur Entwicklung einer mächtigen psoriasiformen Acanthose und gleichzeitig zur weiter ausgeprägten Papillomatose. Auf den Schnitten fehlte ein deutlich ausgebildetes Stratum granulosum. Das verdickte Stratum corneum hob sich in breiten Hornlamellen von den unteren Epidermisschichten ab.

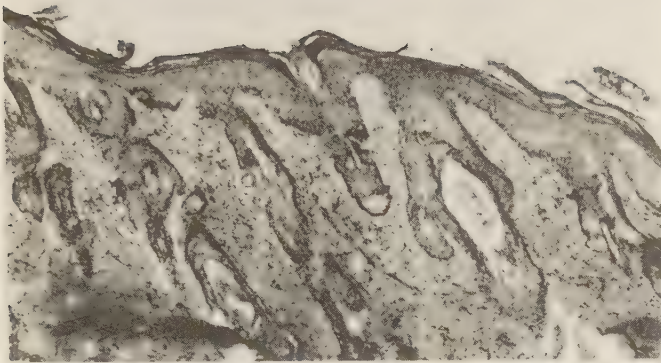


Abb.5. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Am 7.Tag kommt zu einer weiteren Verstärkung der Retezapfen.

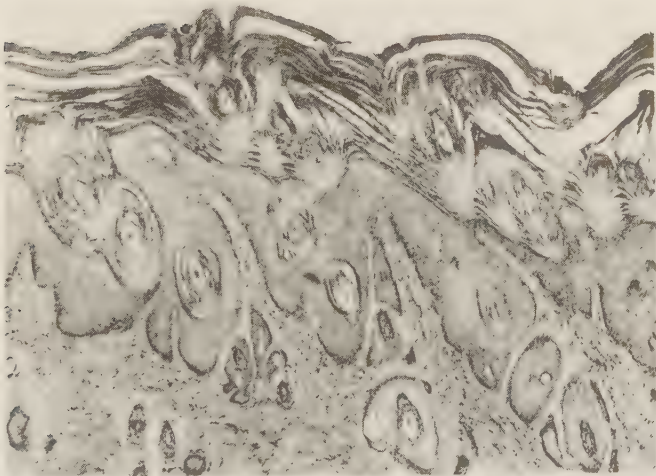


Abb.6. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Nach 7tägiger Applikation.Die durchgehende Parakeratose ist durch eine Hyperkeratose ersetzt.Ausbildung einer mächtigen psoriasiformen Acanthose.

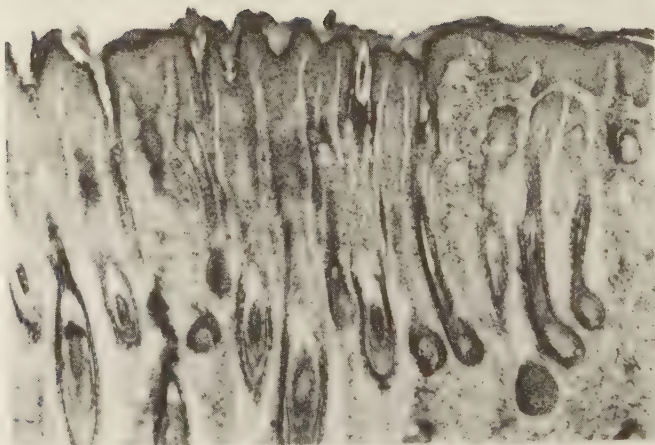


Abb.7. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Nach 9tägiger Applikation bildet sich die Hyperkeratose wieder etwas zurück.Acanthose und Papillomatose verringern sich.

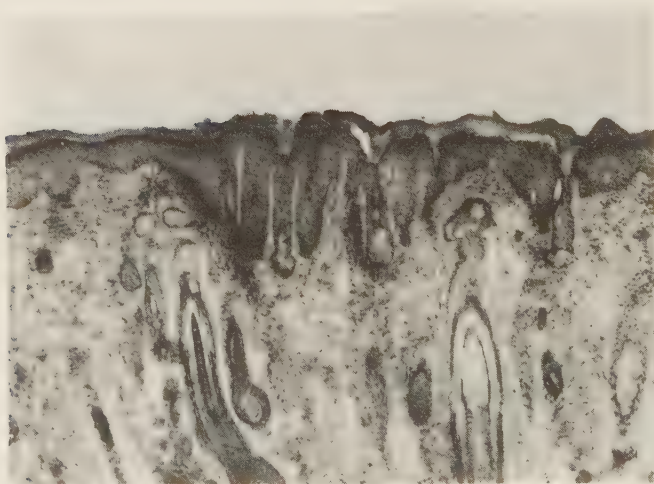


Abb.8. H.E.-Färbung.Mikr.Vergr.128fach.Nach 11tägiger n-Hexadecan-Applikation Rückgang der Verhornungsstörung.Deutliches Stratum granulosum.

Die durchgehende Parakeratose war jetzt in allen Schnitten durch eine Hyperkeratose ersetzt. Ein Stratum granulosum fehlte.

9.Tag :

Die Schnitte der Excisate des 9. Versuchstag zeigen einen Rückgang der pathologischen Befunde. Die Hyperkeratose bildete sich offensichtlich zurück. In den Schnitten erschien wieder ein Stratum granulosum. Acanthose und Papillomatose hatten sich etwas verringert.

11.Tag :

Die Schnitte des 11. Versuchstages zeigen einen weiteren Rückgang der Verhornungsstörung. Auf allen Schnitten sah man wieder ein Stratum granulosum.

Die Schnitte der folgenden Tage zeigten auch unter laufender täglicher n-Hexadecan-Applikation ein Abklingen der gesteigerten Epidermopoese. Am 21. Versuchstag sah man mikroskopisch keine auffallenden morphologischen Abweichungen mehr.

2. Histochemische Befunde

I.) Enzyme der Glykolyse und ihrer Seitenwege

a) Lactatdehydrogenase LDH

Im Vergleich zu anderen Enzymen der Glykolyse besitzt LDH in allen Schichten von normaler Haut eine recht hohe Aktivität (BRAUN-FALCO, RASSNER). Der histochemische Reaktionsausfall auf LDH ist in Stratum basale, -spinosa und Stratum granulosum gleich stark (siehe Tab.) Im

normalen Stratum corneum ist dagegen kein Reaktionsausfall zu erkennen.

Nach lokaler n-Hexadecan-Applikation ließ LDH am 3. Versuchstag eine gleichmäßige Aktivitätssteigerung erkennen. Diese Steigerung sah man in allen Schichten der nicht verhornten Epidermis. In der Intermediärzone erreichte der histochemische Reaktionsausfall am 5. Applikationstag das Maximum und blieb in dieser Stärke bis zum Versuchsende erhalten. Während die hyperkeratotische Hornschicht sich enzymnegativ verhielt, fanden sich in den parakeratotischen Hornschichtarealen stets positive Reaktionsausfälle.

b) Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase GAPDH

GAPDH kann man als das Schlüsselenzym der Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe bezeichnen (BÜCHER, PETTE). Die hohe Aktivität dieses Enzyms in allen Schichten der nicht verhornten Epidermis weist darauf hin, daß die Epidermiszellen unabhängig von ihrer Ausdifferenzierung über eine recht hohe glykolytische Potenz verfügen (BRAUN-FALCO und RASSNER).

Durch die fortlaufende Applikation von n-Hexadecan wurde der positive Ausfall der histochemischen Reaktion in seiner Intensität noch gesteigert. Im Stratum basale fanden sich zwischen 7. und 9. Versuchstag dichte Formazan-niederschläge. Bei Versuchsende waren sie noch deutlich wahrnehmbar, wie sie es bei Versuchsbeginn gewesen waren. Im Stratum spinosum und besonders in den Retezapfen war der histochemische Reaktionsausfall auf GAPDH bis zum Versuchsende stärker als bei normaler Epidermis. Während

die orthokeratotische Hornschicht der normalen Epidermis sich enzymnegativ verhielt, fand sich in der parakeratotischen Hornschicht ein sehr stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion. In der später ausgebildeten Hyperkeratose war dann der Reaktionsausfall wieder negativ. Am 21. Tag fand sich in der Intermediärzone noch ein stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion auf GAPDH.

c) Aldolase ALD

ALD ist ein wichtiges Enzym der Glykolyse. Durch die Aldolase-Reaktion wird die Bildung von Triosen aus Hexose und umgekehrt möglich (BÜCHER).

In den untersuchten Schnitten war der Ausfall der histochemischen Reaktion auf ALD nur geringgradig stärker als bei normaler Epidermis. Nur in der Intermediärzone und in den unteren Schichten der anfangs parakeratotischen Hornschicht war der Anstieg der histochemischen Reaktion signifikant. Am Versuchsende und bei den Kontrolltieren war der Ausfall gleich stark.

d) Glucose-6-phosphatdehydrogenase G-6-PDH

G-6-PDH gehört zu den NADP-spezifischen Dehydrogenasen. Zusammen mit 6-PGDH ist sie ein Teil des sogenannten Pentosephosphatcyclus. Die NADP-spezifischen Dehydrogenasen sind dem energieliefernden Stoffwechsel eng verbunden, ohne ihm direkt anzugehören. Sie stellen ihren Wasserstoff den reduktiven Biosynthesen, wie z.B. den Synthesen von Fettsäuren und Lipoiden, zur Verfügung (BRAUN-FALCO und RASSNER, BRAUN-FALCO und PETZOLDT).

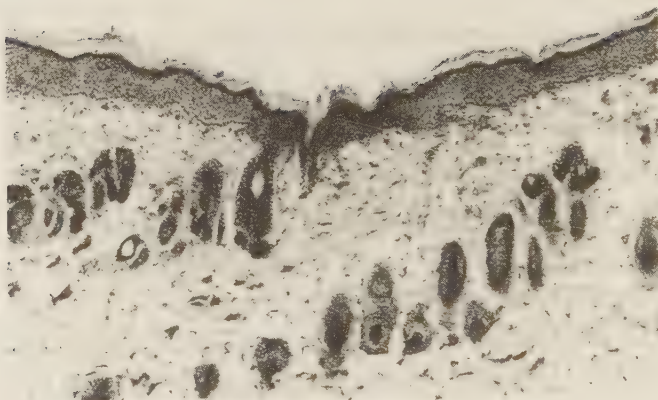


Abb.9.Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
128fach.Nach 1tägiger Applikation keine Änderung der
normalen Enzymhistotopie.

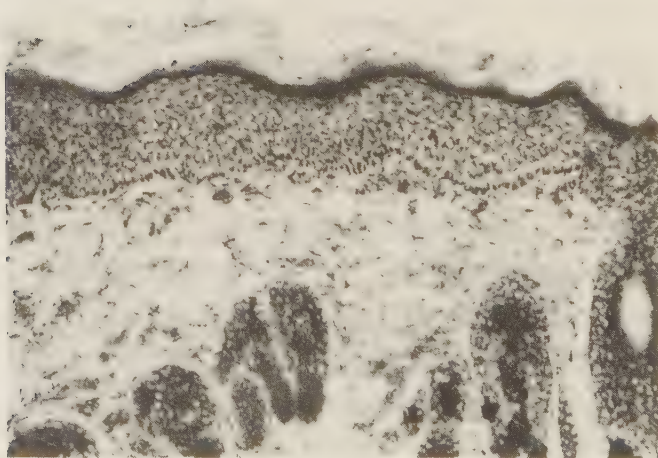


Abb.10. Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
320fach.Nach 1tägiger Applikation keine Änderung der
Enzymhistotopie.

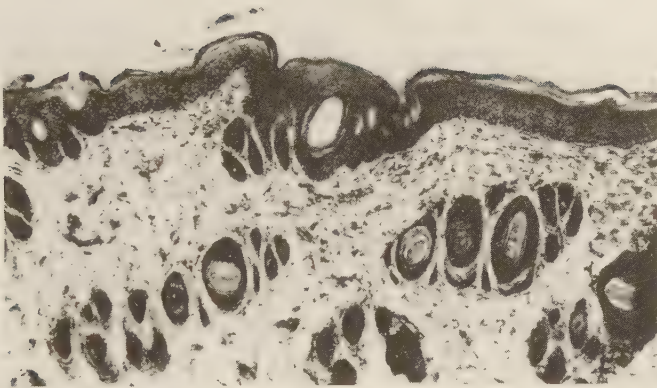


Abb.11. Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
128fach.Bereits am 3.Tag ist der Reaktionsausfall
verstärkt.

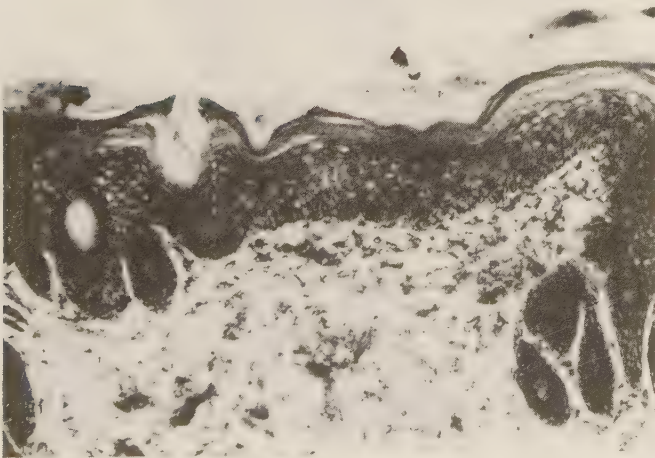


Abb.12. Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
320fach.Nach 3tägiger Applikation sind die Formazan-
granula deutlich wahrnehmbar.

Unter n-Hexadecan-Anwendung war der histochemische Reaktionsausfall im Stratum basale und Stratum spinosum nur geringfügig stärker als bei normaler unbehandelter Epidermis. Bei Versuchsende, am 21. Applikationstag, entsprach der Reaktionsausfall auf G-6-PDH in den nicht verhornten Schichten dem bei normaler Haut. In der Übergangszone und in der hyperkeratotischen Hornschicht nach n-Hexadecan fand sich dagegen ein stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion. Am 9. Tag nach initialer Applikation fanden sich in der keratogenen Zone deutlich wahrnehmbare Formazangranula.

e) 6-Phosphogluconatdehydrogenase 6- GDH

Auch 6-PGDH ist ein Enzym des Pentosephosphatcyclus und gehört zu den NADP-spezifischen Dehydrogenasen. Bei der Histotopie der 6-PGDH, wie auch der G-6-PDH, scheint es, als liege das Aktivitätsmaximum dieser Dehydrogenasen in den oberen Schichten der lebenden Epidermis (BRAUN-FALCO). Daraus wäre zu schließen, daß entsprechende NADP-spezifische reduktive Synthesen bevorzugt in den oberen Epidermisschichten ablaufen.

Bei allgemein stärkerem Reaktionsausfall verhielt sich 6-PGDH sehr ähnlich wie G-6-PDH. Die stärksten histochemischen Reaktionsausfälle auf 6-PGDH in den unteren Schichten der Epidermis wurden zwischen 5. und 7. Tag gesehen. Doch waren die ermittelten Werte nicht sehr viel stärker, als die der Kontrolltiere. Auch bei 6-PGDH verhielten sich die Intermediärzone und die unteren Schichten der Hyperkeratose wesentlich anders. Ein stark positiver Ausfall

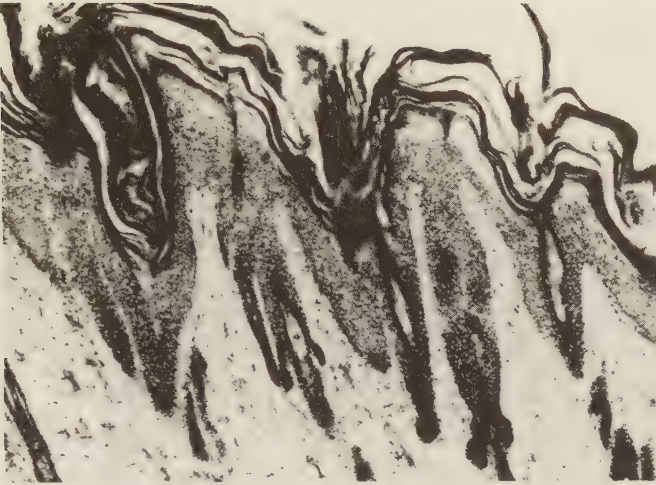


Abb.13.Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
128fach.Dichte Formazanniederschläge am 9.Tag nach
initialer Applikation.

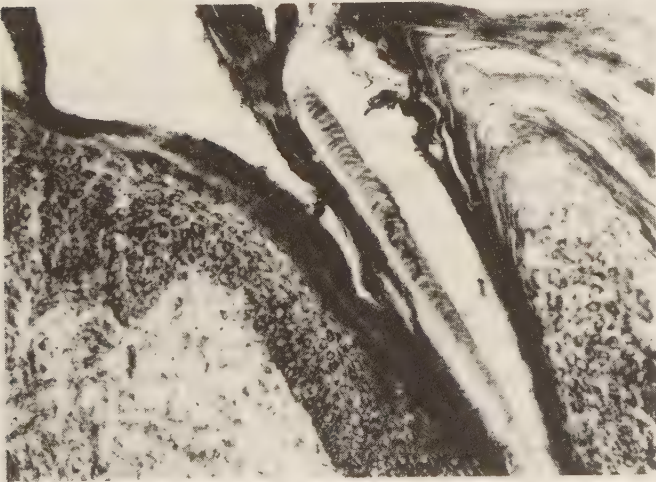


Abb.14. Histochemische Reaktion auf 6-PGDH.Mikr.Vergr.
320fach.Sehr stark positiver Ausfall der histochemischen
Reaktion.

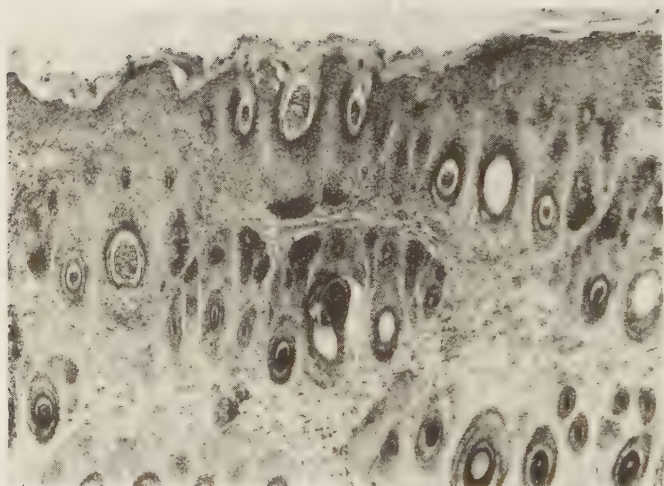


Abb.15. Histochemische Reaktion auf 6-PGDH. Mikr. Vergr. 128fach. Am 21. Tag der fortlaufenden n-Hexadecan-Applikation ist die Intensität des Reaktionsausfalls auf 6-PGDH wieder stark abgesunken.

der histochemischen Reaktion wurde am 5. Tag nach der initialen Applikation gesehen. Am stärksten war die Reaktion am 9. Tag und wurde dabei nur von GAPDH übertroffen. Danach fiel die Intensität des Reaktionsausfalls auf 6-PGDH sehr schnell ab und lag am 21. Tag nur ganz gering über den Ausgangswerten des ersten Tages.

f) NADP-spezifisches Malatenzym ME

In normaler Haut findet man in allen Schichten eine etwa gleich starke Aktivität von ME. In der Hornschicht ist der histochemische Reaktionsausfall auf ME negativ. Als wichtiges Enzym des Glucose-Stoffwechsels ist ME der Glycolyse angeschlossen (BRAUN-FALCO und RASSNER).

Unter der fortlaufenden n-Hexadecan-Anwendung kam es im Stratum basale und im Stratum spinosum zu einer nur ganz geringen, eben wahrnehmbaren Verstärkung der Reaktion auf ME. In der Übergangszone war der stärkste Ausfall der histochemischen Reaktion auf ME am 9. Tag festzustellen. Auffallend war dabei, daß auch in den unteren Schichten der hyperkeratotischen Hornschicht bis zum 21. Versuchstag deutlich wahrnehmbare Formazangranula nachweisbar waren.

g) Hydroxybuttersäuredehydrogenase HBDH

Die Aktivität von HBDH in normaler Meerschweinchenepidermis ist nicht sehr ausgeprägt. Sie ist in Stratum basale und Stratum spinosum etwa gleich.

Unter der täglichen n-Hexadecan-Anwendung kam es in Stratum basale und Stratum spinosum nur zu einer

geringgradigen Verstärkung der histochemischen Reaktion. In der Hornschicht der unbehandelten Haut und der der Kontrolltiere war keine histochemisch nachweisbare Aktivität von HBDH festzustellen. Aber bereits drei Tage nach der ersten örtlichen Anwendung konnte in der Intermediärzone eine stark vermehrte Aktivität von HBDH histochemisch nachgewiesen werden. Die Stärke des histochemischen Reaktionsausfalls erreicht zwischen dem 7. und 9. Tag Werte, die denen in den unteren Schichten der lebenden Epidermis entsprachen.

g) Glycerin-1-phosphatdehydrogenase GDH

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen konnte in den unteren Epidermis-Schichten keine Änderung des Reaktionsausfalls erreicht werden. In der Übergangszone und in den unteren Hyperkeratose-Schichten wurde die bei normaler Haut histochemisch negative Reaktion unter der fortlaufenden n-Hexadecan-Applikation mit deutlich wahrnehmbaren Formazan-niederschlägen eindeutig positiv. Die Stärke des Reaktionsausfalls nahm bis zum Versuchsende nur wenig ab.

II.) Enzyme des Citronensäurecyclus und seiner Seitenwege

a) Isocitradhydrogenase(NAD-spezifisch) IDH-NAD

Im Citronensäurecyclus laufen die Fäden des Protein-, Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels zusammen. Er stellt die nötigen Bausteine zum Aufbau vieler körpereigener Stoffe zur Verfügung (KARLSON). Das Endprodukt der aeroben Glykolyse wird hier weiter abgebaut. Ferner liefert er Intermediärprodukte, die dem Aufbau von Zellbestandteilen dienen (STÜTTGEN).

Als Initialschritt wird die 2 C-Atome enthaltende aktivierte Essigsäure (Acetyl-CoA) mit der Oxalessigsäure (4 C-Atome) als Starter zur Citronensäure (6 C-Atome) kondensiert. Hieraus wird durch Umlageung und partiellen Abbau über einige Stufen zunächst die für die Aminosäuresynthese wichtige alpha-Ketoglutarinsäure gebildet. Durch weiteren Um- und Abbau entsteht über aktivierte Bernsteinsäure (wichtig für die Synthese von Hämoglobin), Fumar- und Äpfelsäure wieder Oxalessigsäure (STÜTTGEN).

Es gelang RASSNER auch in der Meerschweinchenhaut die für den Citronensäurecyclus repräsentative, mitochondriale Komponente, nämlich die NAD-spezifische Isocitratdehydrogenase nachzuweisen. Im Verhältnis zur hochaktiven Glykolyse und dem starken Substratfluß im Pentosephosphat-Zyklus scheint die energieliefernde Kapazität des Citronensäurecyclus in normaler Epidermis gering zu sein (HERRMANN, IPPEN, SCHAEFER, STÜTTGEN).

Die vergleichsweise hohen Aktivitäten glykolytischer Enzyme und vergleichsweise niedrigen Aktivitäten von Enzymen des Mitochondrien-gebundenen Citronensäurecyclus lassen deutlich werden, daß der Schwerpunkt des energieliefernden Stoffwechsels der Epidermiszellen im Bereich der anaeroben Stoffwechselabläufe liegt (BRAUN-FALCO und RASSNER).

Von allen in diesem Versuch untersuchten Enzymen des Citronensäurecyclus war IDH-NAD, mit Ausnahme von SDH, das Enzym mit dem schwächsten Ausfall der histochemischen Reaktion. Dabei fand sich im Stratum basale eine stärkere Anfärbung als in den oberen Schichten des Stratum spinosum.

In der Intermediärzone ist bei normaler Meerschweinchenhaut die histochemische Reaktion auf IDH-NAD negativ.

Unter der fortlaufenden n-Hexadecan-Applikation war der histochemische Reaktionsausfall auf IDH-NAD bis zum 3. Versuchstag schwach. Er verstärkte sich am 7. Tag, um dann nur langsam auf Werte zu sinken, die am 21. Tage die Ausgangsbefunde gering übertrafen. Unter den selben Bedingungen fanden sich in der Intermediärzone schon am 3. Tag deutlich wahrnehmbare Formanangranula. Der positive Ausfall der Reaktion wies darauf hin, daß die Enzymaktivität in dieser Schicht bis zum Versuchsende gleich blieb und nicht, wie bei anderen Enzymen, geringer wurde.

b) Isocitratdehydrogenase (NADP-spezifisch) IDH-NADP

NADP-spezifische IDH ist ein "zweiörtiges", d.h. sowohl intra- als auch extramitochondriales Enzym (BRANDAU und PETTE). In normaler Meerschweinchenhaut ist die mit histochemischen Methoden faßbare Aktivität von IDH-NADP etwas stärker als die von IDH-NAD (BRAUN-FALCO und RASSNER). Auffallend war, daß in den oberen Anteilen des Stratum spinosum der Reaktionsausfall stärker als im Stratum basale ist.

Auch unter der fortlaufenden, lokalen n-Hexadecan-Anwendung war die mit histochemischen Methoden nachweisbare Enzymaktivität im Stratum spinosum kaum signifikant stärker. Im Stratum basale verhielt sich der Reaktionsausfall auf IDH-NADP ähnlich wie bei IDH-NAD. Der Ausfall der histochemischen Reaktion zeigte dabei eine kaum wahrnehmbare Aktivitätssteigerung an. In der Intermediärzone fand sich nach rascher

Verstärkung eine gleichbleibend starke Reaktion auf IDH-NADP bis zum Versuchsende, die deutlich über der von IDH-NAD lag. Erst am 21. Tag war der histochemische Reaktionsausfall wieder schwächer.

c) Succinatdehydrogenase SDH

In der normalen Meerschweinchenepidermis ist die histochemisch nachweisbare Aktivität von SDH auffallend schwach. Das gilt besonders für die oberen Schichten des Stratum spinosum, weil die relativ höher gelegenen Schichten offenbar schlechter mit Sauerstoff versorgt werden (BRAUN-FALCO und RATJENS). Als mitochondrial-gebundenes Enzym ist SDH im Rahmen der Reaktionsfolge Citronensäurecyclus - Atmungskette wirksam.

Unter der lokalen n-Hexadecan-Anwendung fand sich im Stratum basale nur ein kaum wahrnehmbarer stärkerer Reaktionsausfall auf SDH. In den darüber liegenden Schichten konnte keine stärkere histochemische Reaktion gesehen werden. Auch in der Übergangszone und den unteren Hornschichten fanden sich negative Reaktionsausfälle wie bei den Kontrolltieren.

d) Malatdehydrogenase MDH

Von allen Enzymen des Citronensäurecyclus hat MDH in der normal verhornten Meerschweinchenepidermis die mit histochemischen Methoden nachweisbare höchste Aktivität. Sie ist im Stratum basale, Stratum spinosum und Stratum granulosum etwa gleich hoch (BRAUN-FALCO und RASSNER). In der Intermediär-

oder Übergangszone einer qualitativ und quantitativ normal konfigurierten Epidermis ist der Ausfall der histochemischen Reaktion auf MDH negativ.

Unter der n-Hexadecan-Anwendung war die Reaktion auf MDH in den unteren Schichten nur wenig stärker. Die stärkste Reaktion auf MDH wurde erst zwischen 9. und 12. Versuchstag gefunden. Am 21. Tag entsprachen die Reaktionen wieder denen der Kontrolltiere. Auffallend war, daß im Versuchverlauf die histochemische Reaktion auf MDH im Stratum spinosum schwächer wurde, während der Reaktionsausfall in der Intermediärzone deutlich anstieg und zwischen 9. und 12. Tag am stärksten war. Auch bei Versuchsende war der Ausfall der histochemischen Reaktion noch stark positiv und wurde in der Intensität nur von IDH-NADP übertroffen.

e) Glutamatdehydrogenase(NAD-spezifisch) GLuDH¹-NAD

GLuDH-NAD bewirkt durch oxydative Desaminierung von l-Glutaminsäure die Bildung der wichtigen alpha-Ketoglutarsäure. So gewinnt der Citronensäurecyclus eine Verbindung zum Eiweißstoffwechsel (STÜTTGEN).

Die in der normalen Meerschweinchenepidermis mit histochemischen Methoden dargestellte Enzymaktivität der GLuDH-NAD steigerte sich unter der fortlaufenden n-Hexadecan - Anwendung nur gering und lag in der Intensität der histochemischen Reaktion nur wenig über den Ausgangsbefunden bei Versuchsbeginn. Das gilt für Stratum basale und die darüber liegenden Schichten. In der Intermediärzone, in der bei Versuchsbeginn und bei den Kontrolltieren der Ausfall der histochemischen Reaktion auf GLuDH-NAD negativ war, wurde

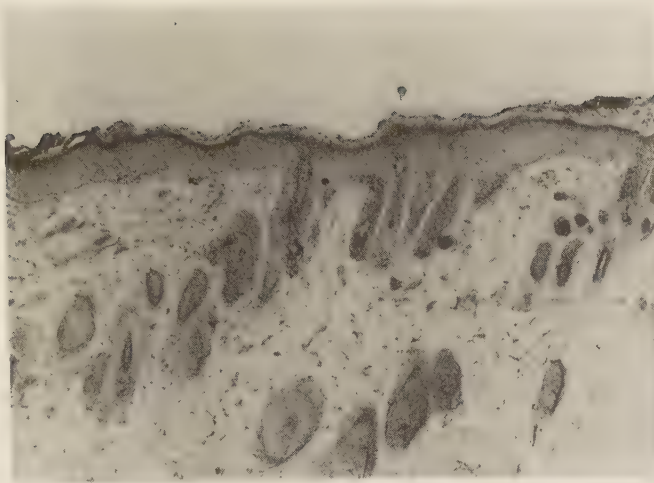


Abb.16. Histochemische Reaktion auf GLuDH-NADP.Mikr.
Vergr.128fach.Keine Änderung des Reaktionsausfalls am
ersten Tag der Applikation.



Abb.17. Histochemische Reaktion auf GLuDH-NADP.Mikr.
Vergr.128fach.Nur ganz geringe Steigerung der Intensität
des Reaktionsausfalls.nach 3tägiger Applikation.

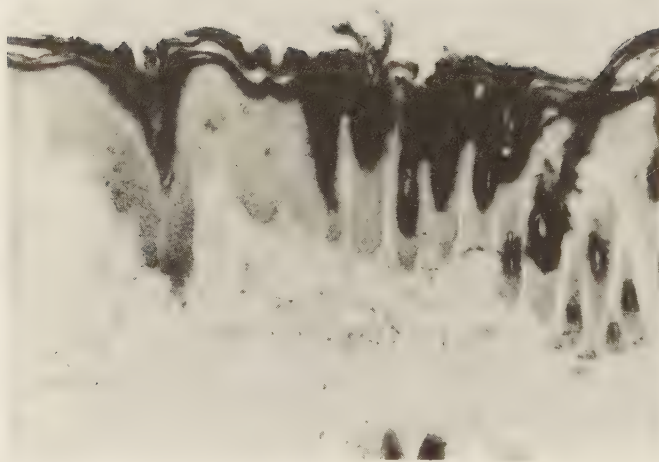


Abb.18. Histochemische Reaktion auf GLuDH-NADP.Mikr.
Vergr.128fach.Am 7.Tag finden sich deutlich wahrnehmbare
Formazangranula.

die Reaktion bis zum 7. Tag stark positiv und blieb in dieser Intensität bis zum Versuchsende erhalten. Auch am 21. Tag wurde ein stark positiver Ausfall der histochemischen Reaktion mit deutlich wahrnehmbaren Formazanniederschlägen gesehen.

f) Glutamatdehydrogenase(NADP-spezifisch) GLuDH-NADP

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen entsprach der Reaktionsausfall auf GLuDH-NADP während des Versuchsverlaufs in den unteren Schichten dem bei GLuDH-NAD. Lediglich zur Zeit der stärksten Reaktion zwischen 7. und 12. Versuchstag war diese bei GLuDH-NADP etwas stärker. In der Intermediärzone und den unteren Schichten der hyperkeratotischen Hornschicht konnte zwischen beiden Enzymen keinerlei Unterschied gefunden werden.

III.) Enzyme der Atmungskette und Ubichinon

a) Cytochromoxydase CYase

Die Wirkgruppen dieser Enzyme sind Redoxsysteme, die entsprechend der Höhe ihrer Redoxpotentiale so hintereinander geschaltet sind, daß in dieser Kette der Wasserstoff der Substrate über ein Pyridin- und dann ein Flavinsystem auf die Cytochrome übertragen wird. Unter Entwicklung aktiven Wasserstoffs setzt anschließend ein Elektronentransport die Oxydationskette über verschiedene Cytochrome bis zur Reaktion von Cytochrom a mit molekularem Sauerstoff bis zur Wasserbildung fort (HERMANN, IPPEN, SCHAEFER und STÜTTGEN). Das Wesentliche der Atmungskette liegt darin, daß

in den Redoxkaskaden chemische Energie gewonnen und in Form von ATP gespeichert wird (KARLSON, STÜTTGEN).

Die Enzyme der Atmungskette, also auch Cyase, sind mitochondrial gebunden. Sie sind in den Mitochondrien lokalisiert und nach Auslösung aus diesen Zellstrukturen sind sie nicht mehr zur ATP-Synthese fähig (BRAUN-FALCO und PETZOLDT, BRAUN-FALCO und CHRISTOPHERS).

Die Aktivität der Cyase ist in der Epidermis nicht in allen Schichten gleichmäßig stark, vielmehr gleicht das Verteilungsmuster mit einem Aktivitätsmaximum in den unteren Epidermislagen dem der SDH. Aus diesen Befunden darf man wohl den Schluß ziehen, daß auch das mit dem Citronensäurecyclus funktionell eng verbundene Stoffwechselsystem der Atmungskette vorwiegend in den unteren Epidermiszellschichten lokalisiert ist (BRAUN-FALCO).

Unter der fortlaufenden Anwendung von n-Hexadecan auf die Meerschweinchenrückenhaut war der Ausfall der histochemischen Reaktion auf Cyase im Stratum basale etwas stärker und im Stratum spinosum etwas schwächer als bei normaler Haut. In der Intermediärzone und in der Hornschicht sah man keine Formazanniederschläge.

b) NADH-Tetrazoliumreduktase NADH-TR

In normaler Epidermis findet man in allen Schichten eine gleich hohe Aktivität von NADH-TR. Die Enzymaktivität ist also in den unteren, besser durchbluteten und höher mit Sauerstoffgesättigten Lagen nicht höher. NADPH-TR und auch Ubichinon verhalten sich in ihrer Topik ähnlich (BRAUN-FALCO). Der histochemische Nachweis von NADH-TR, wie auch von NADPH-TR,

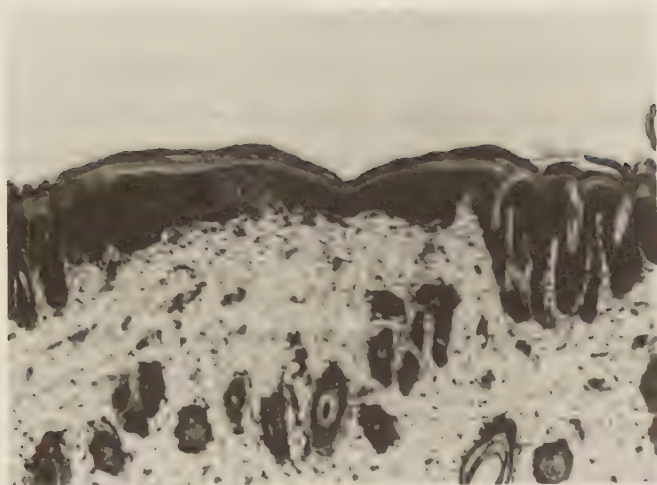


Abb.19. Histochemische Reaktion auf NADH-TR. Mikr. Vergr. 128fach. Am 3. Tag der fortlaufenden n-Hexadecan-Applikation keine wesentliche Steigerung der Intensität des histochemischen Reaktionsausfalls.

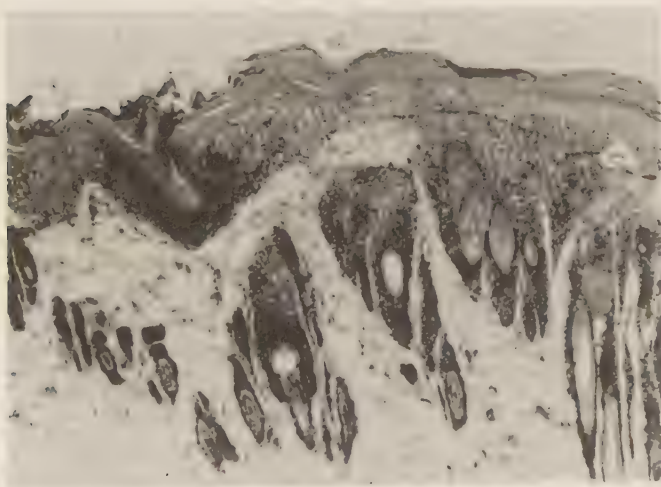


Abb.20. Histochemische Reaktion auf NADH-TR. Mikr. Vergr. 128fach. Keine auffallende Steigerung der Reaktion auf NADH-Tr am 5. Tag der fortlaufenden Applikation.

ist durch ihre gemeinsame Fähigkeit zur Reduktion von Tetrazolsalzen möglich. Versuche von WILLIAM, GIBBS und KAMIN weisen darauf hin, daß es sich bei den Tetrazoliumreduktasen um mehrere verschiedene Enzymsysteme handelt, die auch mit verschiedenen biologischen Funktionen ausgestattet sind. Ihre Hauptaufgabe ist der Wasserstofftransport im Stoffwechselabschnitt der Atmungskette.

Unter der fortlaufenden, örtlichen n-Hexadecan-Anwendung intensivierte sich der Ausfall der histochemischen Reaktion auf NADH-TR im Stratum basale und im Stratum spinosum nicht wesentlich. In der Intermediärzone fanden sich zwischen 7. bis 12. Versuchstag deutlich wahrnehmbare Formazangranula, obwohl bei Versuchsbeginn in dieser Schicht der Ausfall der histochemischen Reaktion negativ war.

c) NADPH-Tetrazoliumreduktase NADPH-TR

Die mit histochemischen Methoden nachweisbare Aktivität von NADPH-TR unter n-Hexadecan entsprach praktisch in allen untersuchten Schichten der Epidermis der von NADH-TR. Auch NADPH-TR zeigte in den unteren Schichten eine nur gering verstärkte Intensivität der histochemischen Reaktion. In der Intermediärzone fanden sich am 7. Tag nach Applikationsbeginn deutlich wahrnehmbare Formazanniederschläge. Zwischen 12. und 14. Versuchstag wurde die Reaktion schwächer. Die Intermediärzone der regenerierten Epidermis bei Versuchsende war histochemisch negativ.

d) Ubichinon UBI

Bei Durchführung der ubichinonanzeigenden histochemischen Reaktion findet man, daß das topische Verhalten von Ubichinon in der normalen Haut ganz dem von NADH-TR und NADPH-TR entspricht. Auch für Ubichinon ^{findet man} in allen lebenden Zellschichten eine positive histochemische Reaktion und negativen Ausfall in der darüber liegenden Intermediärzone. Ubichinon ist in der Epidermis nicht nur an Mitochondrien gebunden. Mit histochemischen Methoden kann Ubichinon auch in extramitochondrialer Lokalisation nachgewiesen werden. Vorrausgegangene Untersuchungen lassen keinen Zweifel, daß Ubichinon im komplexen Stoffwechselsystem der Atmungskette als Oxydations- bzw. Reduktions-Katalysator wirksam ist, aber es scheint auch für den Aufbau energiereicher Phosphatverbindungen eine wichtige Bedeutung zu haben (BRAUN-FALCO und PETZOLDT).

Die normale Epidermis enthält in allen lebenden Schichten einen gleich hohen intrazellulären Gehalt an Ubichinon. Der Reaktionsausfall im orthokeratotischen Stratum corneum ist negativ. Die ubichinonanzeigende Reaktion kann somit bei normaler Haut als ein Zeichen der lebenden Zelle gelten. Nur bei erhöhter Epidermopoese, bei der im parakeratotischen Bereich der Abbau der zellulären Strukturen unvollkommen bleibt, kann Ubichinon histochemisch faßbar werden (BRAUN-FALCO und PETZOLDT)

Unter täglicher, lokaler n-Hexadecan-Applikation stieg der mit histochemischen Methoden nachweisbare Gehalt an Ubichinon in den unteren Epidermisschichten nur gering an.

In der Übergangszone und in den unteren Anteilen der verdickten Hornschicht fiel die ubichinonanzeigende Reaktion am 3. Tag nach der initialen Applikation ganz schwach positiv aus. Die Formazangranula waren aber nur eben wahrnehmbar. In der hyperkeratotischen Hornschicht war die histochemische Reaktion auf Ubichinon negativ.

Besprechung der Ergebnisse

Aus der vorliegenden, wie auch aus früheren Untersuchungen (KIRK, ROSSMILLER, HOEKSTRA, DICKE, PHILLIPS, BROOKS, BAUMANN, BUJARD, JADASSOHN), geht hervor, daß sich unter wiederholter, örtlicher n-Hexadecan-Anwendung der qualitative und quantitative Aufbau der Meerschweinchenepidermis in charakteristischer Weise verändert.

Diese Veränderung hat einen phasenhaften Verlauf. Der initialen Hautrötung folgt, eine durch gesteigerte mitotische Aktivität induzierte epidermale Hyperplasie, die bald zu einer durchgehenden, bandförmigen Verbreiterung der Epidermis führt.

Einer relativen und teilweise fast vollständigen Abnahme der Schichtdicke des Stratum granulosum entspricht eine später fast gigantische Steigerung der Hornschichtdicke, die zunächst in ihren unteren Anteilen noch zahlreiche Zellkerne enthält. So entsteht ein psoriasiformes Bild. Unter der n-Hexadecan-Einwirkung folgt dem parakeratotischen Verhornungsmechanismus bald wieder ein offenbar normaler mit Ausbildung einer mächtigen hyperkeratotischen Hornschicht.

Nachdem sich das gewaltig verdickte Stratum corneum in breiten Hornlamellen abgehoben hat, erscheint wieder ein fast normal konfiguriertes Bild der Epidermisschichten.

Den beschriebenen histologischen Veränderungen entsprechen phasenartige, charakteristische Veränderungen in den Verteilungsmustern der Enzymaktivität. Unter den experimentell ausgelösten pathologischen Bedingungen verändern sich die Enzymmuster der Meerschweinchen-epidermis. Es ändert sich aber nicht nur die Enzymhistotopie sondern auch die mit histochemischen Methoden nachweisbare Aktivität.

Unter wiederholter, örtlicher n-Hexadecan-Anwendung kommt es zu einer deutlichen Erhöhung der glykolytischen Potenz innerhalb aller Epithelzellen, während die Steigerung der Aktivität von Enzymen des Citronensäurecyclus und der Atmungskette wesentlich geringer ist.

Auffällig ist das gleichartige Verhalten der NADPH-liefernden Dehydrogenasen des Pentosephosphatcyclus G-6-PDH und 6-PGDH. Die starke Aktivität dieser Enzyme in den oberen Lagen der akanthotischen Epidermis und in der Intermediärzone weist auf die erhöhte Rate an reduktiven Synthesen (Biosynthese von zB. Lipoiden und Keratin) hin, da durch G-6-PDH und 6-PGDH substrate für den Aufbau großmolekularer Strukturen bereitgestellt werden. Mit der histologisch faßbaren Abnahme der Gewebeproliferation sinkt auch die histochemisch nachweisbare Aktivität der NADPH-liefernden Dehydrogenasen, die dem Pentosephosphatcyclus angeschlossen sind. Gleichartiges Verhalten, wenn

auch nicht so ausgeprägt ,zeigt ALD.

Auffällig ist ferner, daß das für die Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe (BÜCHER und PETTE) repräsentative Schlüsselenzym GAPDH in allen Schichten eine relativ hohe Aktivität erreicht und diese bis zum Versuchsende beibehält. GAPDH wird in der Stärke des Reaktionsausfalls von keinem anderen Enzym übertroffen. Die relativ hohe Aktivität der LDH weist auf eine hohe Rate der Lactatbildung hin. In den anfangs parakeratotischen Hornhautarealen können unter den Versuchsbedingungen schwach positive histochemische Reaktionsausfälle auf GAPDH und auch auf LDH gefunden werden. Die Verstärkung der histochemischen Reaktion auf NADP-spezifische LDH dürfte ebenfalls mit der Zunahme der reduktiven Synthesen in der akanthotischen Epidermis stehen.

Die Enzyme des Citronensäurecyclus zeigen unter der n-Hexadecan-Applikation nur eine geringe, kaum signifikante Verstärkung der histochemischen Reaktion. Der Reaktionsausfall von IDH-NAD ist auch mit zunehmender Akanthose schwach, während sich die histochemisch faßbare Aktivität von SDH unter der Applikation nicht erkennbar verändert. Von allen histiographisch untersuchten Enzymen des Citronensäurecyclus erreicht MDH die relativ stärksten Reaktionsausfälle. Da MDH ein "zweiörtiges", d.h. sowohl intramitochondriales als auch extramitochondriales Enzym ist, kann man den verstärkten Reaktionsausfall dieses Enzyms wohl auf den extramitochondrialen Anteil zurückführen. NADP-spezifische IDH, deren intrazelluläre Verteilung

ebenfalls einen intramitochondrialen und einen extramitochondrialen Anteil aufweist, zeigt ein fast gleichartiges Verhalten. Nicht ganz in Übereinstimmung mit diesen Befunden ist die histochemisch faßbare Aktivitätssteigerung von GLUDH, die ausschließlich im intramitochondrialen Raum lokalisiert ist. Zu diskutieren wäre eine partielle Schädigung der Mitochondrienmembran. Die ebenfalls streng intramitochondrial-gebundene SDH bleibt allerdings während des Versuchs auf den niedrigen Werten der Ausgangsaktivität.

In der durch n-Hexadecan bandförmig verbreiterten Epidermis steigt die Aktivität der Enzyme, die der Atmungskette zugeordnet sind, nur sehr geringfügig und kaum wahrnehmbar an. Auffällig ist das Verhalten der Cytochromoxydase, deren Aktivität im Stratum spinosum signifikant abnimmt. Eine Erhöhung des Reaktionsausfalles wird nur kurzzeitig am Höhepunkt der histologisch faßbaren Veränderungen beim Nachweis der Tetrazoliumreduktasen festgestellt. Der histochemische Reaktionsausfall ist aber wesentlich schwächer als bei den Enzymen der Glykolyse.

Die Tatsache, daß auch die Enzyme, die der Bereitstellung von NADP-gebundenen Wasserstoff für reduktive Biosynthesen dienen, eine bemerkenswerte Aktivitätssteigerung aufweisen und andererseits die Enzyme der Atmungskette und des Citronensäurecyclus in ihrer Aktivität durch die n-Hexadecan-Einwirkung nur geringfügig gesteigert werden, kennzeichnet die Änderung des Verhältnisses von oxydativem zum glykolytischen Stoffwechsel.

Die histoenzymatischen und histotopochemischen

Veränderungen bei durch n-Hexadecan ausgelösten epidermalen Reaktion weisen darauf hin, daß es unter der Applikation zu einer deutlichen Steigerung der glykolytischen Potenz in den oberen Epithellagen kommt. In der verbreiterten, akanthotischen Epidermis ist es zu einer absoluten und relativen Verschiebung vom oxydativen mitochondrialen Stoffwechsel zum glykolytischen Stoffwechsel gekommen.

Dieses topische Verhalten der Enzyme findet man auch bei anderen Störungen des Verhornungsvorgangs.

BRAUN-FALCO und PETZOLDT stellten fest, daß die psoriatische Epidermis gegenüber normaler Epidermis durch eine Änderung des Verhältnisses von oxydativem zum glykolytischen Stoffwechsel gekennzeichnet ist. Dieses topische Verhalten ist nicht nur auf den Psoriasisherd beschränkt, sondern läßt sich bereits in der klinisch normalen, histologisch aber veränderten "Zone der gesteigerten Epidermopoese", die unmittelbar an den Psoriasisherd grenzt, histochemisch erfassen.

Nachdem schon Untersuchungen der epidermalen Regeneration am Meerschweinchenohr nach Hornschichtabriß (CHRISTOPHERS und BRAUN-FALCO) ähnliche Enzymmuster ergeben hatten, konnte gezeigt werden, daß durch örtliche Vitamin A-Säure-Applikation am Meerschweinchenohr eine psoriasiforme Epidermishyperplasie induziert werden konnte (BRAUN-FALCO und CHRISTOPHERS, CHRISTOPHERS und BRAUN-FALCO). Diese läßt einen phasenhaften Ablauf erkennen, welcher dem der Morphogenese der Psoriasis vulgaris sehr ähnlich ist. Das qualitative und quantitative histochemische Verhalten von Enzymen der Glykolyse, des Pentosephosphatcyclus,

des Citronensäurecyclus und der Atmungskette in der verbreiterten Epidermis nach örtlicher Vitamin A-Säure-Applikation läßt beachtenswerte Parallelen zum Verhalten bei Psoriasis erkennen (BRAUN-FALCO und CHRISTOPHERS).

Unter der örtlichen n-Hexadecan-Einwirkung kommt es, ähnlich wie unter Vitamin A-Säure, zur Änderung des Verhältnisses von oxydativem zum glykolytischen Stoffwechsel.

Die Analyse der epidermalen Reaktion bei Psoriasis vulgaris, unter Vitamin A-Säure-Einwirkung und unter örtlicher n-Hexadecan-Applikation weist somit beachtenswerte Parallelen auf. Das sehr ähnliche histoenzymatische Verhalten macht es wahrscheinlich, daß es sich auch bei Psoriasis nicht um ein Psoriasis-spezifisches Enzymmuster der Epidermis handelt.

Man kann vermuten, daß die n-Hexadecan-Applikation, ähnlich wie die physikalische Schädigung durch Hornschicht-abriß bis zur Barriere oder wie die Auslösung eines isomorphen Reizeffektes bei Psoriasis (GRÜNEBERG) wirkt und mit einer Steigerung der Epidermopoese beantwortet wird.

Zusammenfassung

1.) Durch örtliche n-Hexadecan-Applikation kann an der Meerschweinchenepidermis durch Steigerung der Epidermopoese eine starke Hyperplasie der Epidermis verursacht werden.

2.) Diese läßt einen phasenhaften Verlauf erkennen,

welcher dem der Morphogenese der Psoriasis vulgaris ähnlich ist. Nach bandförmiger Verbreiterung der Epidermis mit Parakeratose bildet sich eine starke Papillomatose mit Übergang in Hyperkeratose aus. Auch unter laufender Applikation bilden sich die morphologischen Veränderungen zurück.

3.) Unter n-Hexadecan-Applikation kommt es zu einer deutlichen Erhöhung der glykolytischen Potenz innerhalb der Epithellagen der verbreiterten Epidermis, während die Steigerung der Aktivität von Enzymen des Citronensäurecyclus und der Atmungskette wesentlich geringer ist.

4.) Das qualitative und quantitative histochemische Verhalten der untersuchten Enzyme weist darauf hin, daß die bei Psoriasis vulgaris bekannten Abweichungen in der Histotopie und histochemischen Aktivität von Enzymen der Glykolyse, des Citronensäure- und Pentosephosphatcyclus sowie der Atmungskette in der Epidermis nicht Psoriasis-spezifisch sind; sie sind nur typisch für Psoriasis vulgaris.

5.) Die n-Hexadecan-induzierte Ausdifferenzierungsstörung kann wie die Auslösung eines isomorphen Reizeffektes bei Psoriasis vulgaris gewertet werden. Es handelt sich um eine besondere Reaktionsform der Haut auf eine an Proliferation und Ausdifferenzierung eingreifende Noxe.

Case

Kentville
Hire

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21. 108

H

LDH
GAPDH

LDH
GAPDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH

GAPDH
LDH

LDH
GAPDH

LDH
GAPDH

GAPDH
LDH

H

ALD
GAPDH

ALD
GAPDH
HBDH

ALD
HBDH
GAPDH

HBDH
ALD

ALD
HBDH

ALD
HBDH

ALD
HBDH

HBDH
ALD

ALD

GAPDH

GAPDH

GAPDH

GAPDH

GAPDH

ME

ME

ME

ME

ME

ME

ME

ME

ME

HBDH
ME

+

0

Stratum
Spinosum

Kontroll-
tiere

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21.

H

LDH
GAPDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

GAPDH
LDH

H

ALD

ALD

ALD

ALD
HBODH

ALD
HBODH

ALD

ALD

ALD
HBODH

ALD
HBODH

ALD

+

ME

ME

ME

GODH
ME

GODH
ME

GODH
ME

GODH
ME

GODH
ME

GODH
ME

GODH
ME

+

	1.	2.	5.	7.	9.	12.	14.	17.	21. Tag
44					GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	
			GAPDH LDH	GAPDH LDH HE GDH	LDH HE GDH	HE LDH HBDH GDH	LDH HE GDH	HE LDH GDH	
44			HE	HBDH	HBDH		HBDH	HBDH	GAPDH HBDH GDH
			GDH HBDH						
+		HE GDH	ALD	ALD	ALD	ALD	ALD	ALD	ALD
		HBDH LDH ALD							
6	GDH ALD HBDH LDH HBDH HE GAPDH								

*Cyathus
stratum
basale*

Kontroll-
tiere

1. 3. 5. 7. 9. 12. 14. 17. 21. Tag

44

4

6-PGDH

6-PGDH 6-PGDH 6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

G-6-PDH G-6-PDH

G-6-PDH G-6-PDH G-6-PDH

G-6-PDH

G-6-PDH

G-6-PDH

+

G-6-PDH

G-6-PDH

8

anteras
Stachyum
Sporosum

Routelle
tiere

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21. Tag

44

44

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH 6-PGDH 6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH 6-PGDH 6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH 6-PGDH 6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

6-PGDH

44

44

Cyane's
 Oboes Station
 Grimo for u.
 In the medicine Chest
 here

27. Tag

17

14

12

9

7

5

3

1

++

#

+

2

6-P&DH

6-P&DH

6-P&DH

6-6-PDH

6-P&DH

6-6-PDH

6-6-PDH

6-6-PDH

6-P&DH

6-P&DH

6-6-PDH

6-6-PDH

6-P&DH

6-6-PDH

6-P&DH

6-6-PDH

6-6-PDH

6-6-PDH

exclus

Stratum
spinosum

Kontroll-
tiere

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21. Tag

HH

JDH-NRDP JDH-NRDP
MDH MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

JDH-NRDP
MDH

#

GLUDH-NRDP GLUDH-NRDP
GLUDH-NRDP GLUDH-NRDP
JDH-NRDP JDH-NRDP

GLUDH-NRDP
GLUDH-NRDP

GLUDH-NRDP
GLUDH-NRDP

GLUDH-NRDP
MDH

GLUDH-NRDP
MDH

GLUDH-NRDP
MDH

GLUDH-NRDP
MDH

GLUDH-NRDP
MDH

GLUDH-NRDP
MDH

+

SDH

SDH

SDH

SDH

SDH

SDH

SDH

SDH

SDH

0

21. 108

2

504

445

1975

504

SDH

504

504

SDH

MJDH MJDH MJDH
GLVDH-NAD GLVDH-NAD
GLVDH-NAD GLVDH-NAD
GLVDH-NAD GLVDH-NAD
GLVDH-NAD GLVDH-NAD

$JDH - NRD \cdot JDH, NRD \cdot JDH - NRD \cdot JDH - NRD \cdot JDH - NRD$

Q44V-HQ179
Q44V-110177

НДМ

944-40779

FDH-HAL

JDH-NAD JDH-NAD
JDH-NAD

Ubidinium
Stratum
Basale

Kettell-
 fiere

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21. Top

44

NADH-TR NADH-TR NADH-TR
 NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR

NADH-TR NADH-TR NADH-TR
 NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR

4

NADH-TR NADH-TR NADH-TR
 NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR

UBI

UBI

UBI

UBI

UR

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

UBI

Stratum
spinosum

Kontroll-
tiere

1. 3. 5. 7. 9. 12. 14. 17. 21. Tag

#

NADH-TR NADH-TR NADH-TR
NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR

#

NADH-TR NADPH-TR NADPH-TR
NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR
NADH-TR NADH-TR NADH-TR
NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR
UBI UBI UBI
UBI UBI UBI

+

CTase CTase CTase
CTase CTase CTase
CTase CTase CTase

0

2. 10. 1
 2. 10. 1
 2. 10. 1

Kontroll-
 time

1.

3.

5.

7.

9.

12.

14.

17.

21. Tag

##

##

+

0

NADH-TR NADH-TR NADH-TR
 NADPH-TR NADPH-TR NADPH-TR

NADH-IR
 NADPH-TR

NADH-TR UBI
 NADPH-TR

UBI

UBI

UBI

UBI UBI

NADH-IR NADH-TR
 NADPH-IR NADPH-TR

NADH-TR
 NADH-TR NADPH-TR
 NADPH-TR NADPH-TR UBI

Lipase

Citase

Citase

Citase

Citase

Citase

Literaturverzeichnis

- 1.) ABÉ, T., and N. SHIMIZU: Histochemical method for
demonstrating aldolase.
Histochemie 4, 209-212 (1964).
- 2.) BRAUN-FALCO, O.: Histochemische Morphologie der abnormalen
Verhornung
Proc. XII. Int. Congr. Derm., Washington D.C. in
Excerpta med. Int. Congr. Series No 55 p. 416
- 3.) BRAUN-FALCO, O.: The histochemistry of psoriasis
Ann. N. Y. Acad. Sci. 73, 936-976 (1958)
- 4.) BRAUN-FALCO, O.: Zur Histotopographie der Cytochromoxydase
in normaler und in pathologisch veränderter
Haut sowie in Hauttumoren
Arch. klin. exp. Derm. 214, 176-224
- 5.) BRAUN-FALCO, O.: Zur Morphogenese der psoriatischen Haut-
reaktion; eine morphologisch-histochemische
Studie
Arch. klin. exp. Derm. 216, 130-154 (1963)
- 6.) BRAUN-FALCO, O.: Histochemische und morphologische Studien
an normaler und pathologisch veränderter
Haut
Arch. Derm. Syph. (Berl.) 198, 111 (1954)
- 7.) BRAUN-FALCO, O. u. E. CHRISTOPHERS: Psoriasiforme Epidermis-
reaktion der Meerschweinchenhaut durch
örtliche Vitamin A-Säure-Applikation
Arch. klin. exp. Derm. 234, 70-86 (1969)
- 8.) BRAUN-FALCO, O. u. D. PETZOLDT: Über die Histotopie von
Ubichinon in menschlicher Haut
I Normale Haut
Arch. klin. exp. 223, 165-184 (1965)

- 9.) BRAUN-FALCO, O. u. D. PETZOLDT: Über die Histotopie von Ubichinon in menschlicher Haut
II Pathologisch veränderte Haut und Hauttumoren
Arch.klin.exp.Derm.228,290(1965)
- 10.) BRAUN-FALCO, O. u. D. PETZOLDT: Zur Frage optimaler Reaktionsbedingungen bei der histochemischen Darstellung von Enzymen des Energieliefernden Stoffwechsels in der Epidermis I. Dehydrogenasen
Arch.klin.exp.Derm.223,620-633(1965)
- 11.) BRAUN-FALCO, O. u. D. PETZOLDT: Zur Histotopie von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der Epidermis bei Psoriasis vulgaris
Arch.klin.exp.Derm.230,223(1967)
- 12.) BRAUN-FALCO, O. u. G. RASSNER: Aktivitätsmuster und Histotopie von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in normaler Haut
Sritti in onore di Agostino Crosti
Giorn.Ital.Derm.,107,553-562(1966)
- 13.) BRAUN-FALCO, O. u. G. RASSNER: Zur morphologischen und funktionellen Organisation der menschlichen Epidermis
Marburger Univ.Bund Jahrbuch,S.79-104(1967)
- 14.) BRAUN-FALCO, O. u. B. RATJENS: Histochemische Darstellung der Bernsteinssäuredehydrogenase in der menschlichen Haut
Derm.Wschr.130,1271-1276(1954)

- 15.) BROOKS S.C. u. BAUMANN, C.A.: Skin serols. X. Studies with certain hyperplasia inducing hydrocarbons
Cancer Res., 16:357, 1956
- 16.) BRODY, J.: An ultrastructure study on the role of the keratohyalin granules in the keratinization process
J. Ultrastruc Res 3, 84-104 (1960)
- 17.) BRODY, J.: An electron microscopic investigation of the keratinization process in the epidermis
Acta derm.-venereol. (Stockh.) 40, 74-84 (1960)
- 18.) BRODY, J.: Electron microscop observations on the keratinization process in normal and psoriatic epidermis
Almquist & Wiksells Boktryckeri A.B. Uppsala
- 19.) BRODY, J.: The ultrastructure of the horny layer in normal and psoriatic epidermis as revealed by electron microscopy
J. invest. Derm. 39, 519-527 (1962)
- 20.) BÜCHER, T. u. D. PETTE: Comparable and specific proportions in the pattern of enzymic activities of the main pathways of energy producing metabolism.
Proc. 5th Int. Congr. Biochem. Moscow 1961
Vol. III, Evolutionary biochemistry, ed. by A. J. Oparin. New York-Oxford-London-Paris
Pergamon Press 1963
- 21.) BUJARD, E., JADASSOHN, W. and PAILLARD, R.: Action de quelques hydrocarbures sur l'épiderme.
Dermatologica, 106:161, 1953
- 22.) BURSTONE, M.S.: Modifications of histochemical techniques for the demonstration of cytochrome oxidase
J. Histochem. Cytochem. 9, 59-65 (1961)

- 23.) CHARLES, A.: The ultrastructure of the epidermis
Symp. zool. Soc. Lond. 12(39-54)
- 24.) FLESCH, P.: Chemical data on human epidermal keratinization
and differentiation
J. invest. Derm. 31, 63-74 (1958)
- 25.) HERRMANN, F., H. IPPEN, H. SCHAEFER und G. STÜTTGEN: Biochemie
der Haut - Georg Thieme Verlag Stuttgart 1973
- 26.) HESS, R., D. G. SCARPELLI, and A. G. E. PEARSE: The cytochemical
localisation of oxidative enzymes. II. Pyridin-
nucleotide linked dehydrogenases.
J. biophys. biochem. Cytol. 4, 753-760 (1958)
- 27.) HIMMELHOCH, S. R., and M. J. KARNOWSKY: The histochemical
demonstration of glyceraldehyde-3-phosphate
dehydrogenase activity.
J. biophys. biochem. Cytol. 9, 573-581 (1961)
- 28.) HOEKSTRA, W. G., DICKE, R. J. and PHILLIPPS, P. H.: Production of
hyperkeratosis in calves with a topically
applied oil-based insecticide carrier.
Amer. J. Vet. Res., 15:47, 1954
- 29.) HOEKSTRA, W. G. and PHILLIPPS, P. H.: Effects of topically applied
mineral oil fractions on the skin of guinea pig
J. Invest. Derm., 40:79 (1963)
- 30.) KIRK, D. L. and W. G. HOEKSTRA: Hexadecane-induced hyperkera-
tinization of guinea pig skin.
J. Invest. Derm. Vol. 43. No. 2 pp. 93-98 (1964)
- 31.) MONTAGNA, W.: The Structure and Function of Skin.
Academic Press, New-York-London 1962

- 32.) NACHLAS, M.M., K.C. TSOU, E. DE SOUZA, C.S. CHENG, and A.M. SELIGMAN:
Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole.
J. Histochem. Cytochem. 5, 420-436 (1957)
- 33.) NACHLAS, M.M., D.G. WALKER, and A.M. SELIGMAN: The histochemical localization of triphosphopyridine diaphorase.
J. biophys. biochem. Cytol. 4, 467-474 (1958)
- 34.) PEARSE, A.G.E.: Histochemistry. Theoretical and applied -
2nd edition. London: J. and A. Churchill Ltd. 1960
- 35.) PETZOLDT, D.: Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in der Haarmatrix während eines künstlich induzierten Haarcyclus
Arch. klin. exp. Dermat. Bd. 227, S. 513 (1966)
- 36.) PETZOLDT, D.: Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in Naevuszellen.
Arch. klin. exp. Dermat. Bd. 228, 136-158 (1967)
- 37.) PETZOLDT, D. und BRAUN-FALCO, O.: Zur Frage optimaler Reaktionsbedingungen bei der histologischen Darstellung von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der Epidermis II. Aldolase, Tetrazoliumreduktasen, Cytochromoxydase und Ubichinon.
Arch. klin. exp. Dermat. 227, 1005-1013 (1967)
- 38.) ROSSMILLER, J.D. and W.G. HOEKSTRA: Hexadecane-induced hyperkeratinization of guinea pig skin, II. Arginase Activity in Normal and Hexadecane treated Epidermis
J. Invest. Derm. Vol. 45, No. 1 pp 24-29 (1965)
- 39.) ROSSMILLER, J.D. and W.G. HOEKSTRA: Hexadecane-induced hyperkeratinization of guinea pig skin, III. Cutaneous

Penetration of Topically Applied

Hexadecane 1-C-14

J.Invest.Derm.Vol.47 No1 pp39-43(1966)

- 40.ROSSMILLER,J.D. and W.G.HOEKSTRA:Hexadecane-induced hyperkeratinization of guinea pig skin,IV.A

Comparison of Free Amino Acid Levels in Normal and Hyperkeratotic Epidermis.

J.Invest.Derm.Vol.47 No1 pp44-48(1966)

- 41.)SPIER,H.W. und P.VON CANEGHEM:Zur Histochemie der Verhornung

Arch.klin.exp.Derm.206,344-363(1957)

- 42.)SPIER,H.W. und E.SCHWARZ:Chemie der Hornschicht

Proc.11.int.Congr.Derm.Washington 1962

Excerpta med.(Amst.)1,359(1963)

- 43.)STEIGLEDER,G.K.:Morphologische und histochemische Befunde in pathologischer hornschicht,insbesondere bei Parakeratose

Arch.klin.exp.Derm.207,209-229(1958)

- 44.)STEIGLEDER,G.K.:Bemerkungen über das Vorkommen auf,unter und in normaler und pathologisch veränderter Hornschicht

Arch.klin.exp.Derm.211,203-207(1958)

- 45.)STEIGLEDER,G.K.:Histochemistry of plantar hyperkeratosis

J.Invest.Derm.31,29-34(1958)

- 46.)STEIGLEDER,G.K.:Über die Lokalisation von Ribonuklease (RNase) und Desoxyribonuklease(DNase)-Aktivität in normaler,in entzündlich veränderter Haut und bei Hauttumoren

Arch.klin.exp.Derm.217,553-562(1963)

- 47.)STEINER,K.:Histochemical observations on parakeratosis

Arch.Derm.Syph.(Chic.)77,586-592(1958)

- 48.)STEINER,K.:A histochemical study of hyperkeratosis
Arch.Derm.Syph.(Chic.)79,436-443(1958)
- 49.)STÜTTGEN,G.:Die normale und pathologische Physiologie
der Haut
Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1965
- 50.)STÜTTGEN,G.:Funktionelle Dermatologie
Springer-Verlag Wien (1974)
- 51.)SZAKALL,A.:Über die Eigenschaften,Herkunft und physiolo-
gischen Funktionen der die H-Ionenkonzentration bestimmenden Wirkstoffe
in der verhornten Epidermis
Arch.klin.exp.Derm.201,331-360(1955)
- 52.)TRANZER,J.P., and A.G.E.PEARSE:Cytochemical demonstration
of ubiquinones in animal tissue
Nature(Lond.)199,1063-1066(1963)
- 53.)WEBER,G. und BRAUN-FALCO,O.:Über das Vorkommen eines sauren
Glykoproteids in Psoriasissschuppen
Derm.Wschr.138,798-793(1958)
- 53.)ZELICKSON,A.S. and HARTMANN,J.F.:An electron microscopic
study of human epidermis
J.Invest.Derm.36,65-72(1961)

Lebenslauf

Am 23. Juli 1940 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr.med.dent.Wolfgang Kirstein und seiner Ehefrau Gertraud in Goldap/Ostpreußen geboren.Nach der Flucht ließ sich mein Vater in Parchim/Mecklenburg nieder,wo ich auch die Schule besuchte und das Abitur bestand.Danach verließ ich die SBZ und studierte in Marburg,Wien und Berlin Medizin.Nach dem Staatsexamen arbeitete ich in Marburg,Berlin und München als Medizinalassistent.In München war ich dann zwei Jahre als chirurgischer Assistenzarzt tätig.Seit 1970 arbeite ich als Assistenzarzt in der Urologischen Klinik des Evangelischen Krankenhauses "Lutherhaus" in Essen.

Herrn Prof.Dr.med.O. Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Themas sowie die Gewährung der Arbeitsmöglichkeit in der Dermatologischen Universitätsklinik München.

